UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1950-1951 — N° 25

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES MÉTHODES DE DOSAGE BIOLOGIQUE DE L'HORMONE THYRÉOTROPE (TSH)

(Travail du Laboratoire d'Anatomie Générale et d'Histologie et du Laboratoire de Médecine Expérimentale)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ÉTAT

présentée et soutenue publiquement le Vendredi 22 Décembre 1950.

PAR

Jean RIVIÈRE

ex-interne des Hôpitaux de Bordeaux

Assistant de Médecine Expérimentale

Né à BORDEAUX le 16 Novembre 1921

Examinateurs de la Thèse

AUBERTIN, Professeur..... *Président.*

DUPÉRIÉ, Professeur.....

MAYER, Professeur..... *Juges.*

SARIC, Agrégé.....

BORDEAUX

IMPRIMERIE RENÉ SAMIE

21-23, rue Teulère

—

1950

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1950-1951 — N° 25

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES MÉTHODES DE DOSAGE BIOLOGIQUE DE L'HORMONE THYRÉOTROPE (TSH)

(Travail du Laboratoire d'Anatomie Générale et d'Histologie et du Laboratoire de Médecine Expérimentale)

THESE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ÉTAT

présentée et soutenue publiquement le Vendredi 22 Décembre 1950.

PAR

Jean RIVIÈRE

ex-interne des Hôpitaux de Bordeaux

Assistant de Médecine Expérimentale

Né à BORDEAUX le 16 Novembre 1921

Examinateurs de la Thèse

AUBERTIN, Professeur..... *Président.*

DUPÉRIÉ, Professeur..... *Juges.*

MAYER, Professeur..... *Juges.*

SARIC, Agrégé..... *Juges.*

BORDEAUX

IMPRIMERIE RENÉ SAMIE

21-23, rue Teulère

1950

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYEN HONORAIRE : M. DUPÉRIÉ.
DOYEN : M. PORTMANN. — **ASSESSEUR** : M. CHELLE.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. DENIGÈS, A. MANDOUL, PETGES, GUYOT, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PÉRY, LABAT, CHARRIER, DUBREUIL, MACHEBŒUF

PROFESSEURS :

	MM.		MM.
Clinique médicale	DUPÉRIÉ.	Médecine expérimentale	AUBERTIN.
id.	CREYX.	Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX.
Clinique chirurgicale	PAPIN.	Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	LOUBAT.
id.	MASSÉ.	Clinique des maladies infectieuses	DAMADE.
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE.	Chimie biologique et médicale	TAYEAU
Clinique gynécologique	MAGENDIE.	Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT.
Anatomie pathologique et microscopie clinique	DE GRAILLY.	Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	BONNIN.
Anatomie	VILLEMIN.	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JOULIA.
Anatomie générale et histologie	MAYER.	Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET.
Hygiène et clinique de la tuberculose.	PIÉCHAUD.	Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Médecine légale et Médecine du travail	DERVILLÉE.	Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN.
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	REBOUL.	Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNOU.
Chimie	CHELLE.	Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ
Matière médicale	GOLSE.	Botanique et cryptogamie	GIRARD.
Pharmacie	VITTE.	Thérapeutique	BROUSTET
Physiologie	FABRE.		
Clinique médicale des maladies des enfants	FONTAN.		
Zoologie et parasitologie	SIGALAS.		

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. PERRENS (Maladies mentales), DUFOUR (Anatomie), MESNARD (Pharmacie).

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

	MM.		MM.
Parasitologie	PAUTRIZEL.	Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE.
Physiologie	Mlle ROUGIER.	Pharmacie (2e Section)	MASQUELIER
Bactériologie	MOUSTARDIER.	Pharmacie (3e Section)	CAZAUX.

MAITRE DE CONFÉRENCES :

Physique pharmaceutique ..... M. BLANQUET.

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Médecine générale	SARIC.	Ophtalmologie	BESSIÈRE.
id.	DUBARRY.	Oto-rhino-laryngologie	DESPONS.
id.	F.-J. TRAISSAC.	Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT.
id.	BERGOUIGNAN.	Histologie	MAYER.
id.	LENG-LÉVY.	Pédiatrie et puériculture	VERGER.
Chirurgie générale	POUYANNE.	Médecine légale et médecine du trafail	L'ÉPÉE.
id.	LAUMONIER.	Electro-radiologie	LACHAPÈLE.
id.	CHAVANNAZ.	Odonto-stomatologie	MARONNEAUD.
Obstétrique	MAHON.	Urologie	LANGE.
id.	CHASTRUSSE.		

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Médecine opératoire	DUFOUR.	Pharmacie galénique	MESNARD.
Accouchements	MAHON.	Organographie et physiologie végétale	TEMPÈRE.
Puériculture	PERY	Chimie biologique	NEUZIL.
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI.	Pathologie chirurgicale	LAUMONIER.
id.	COUSTOU.	id.	VILLAR.
Anatomie	RIGAUD.	Zoologie pharmaceutique	BAILANGER.
Chimie générale et analytique	BABIN.	Hydrologie pharmaceutique	CAZAUX.
Cryptogamie	LAUBIE.		

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MA FEMME

A MES ENFANTS

A MES PARENTS

A MES BEAUX-PARENTS

A TOUTE MA FAMILLE

A MES CAMARADES DE L'INTERNAT

A MES AMIS DU LABORATOIRE D'HISTOLOGIE

A MES AMIS DU LABORATOIRE
DE MÉDECINE EXPÉRIMENTALE

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ ET DES HOPITAUX

Externat

1942. Monsieur le Docteur LAFARGUE
1942. Monsieur le Docteur DESQUEYROUX
1943. Monsieur le Professeur FONTAN

Externat en premier

1944. Monsieur le Docteur LEURET
1944. Monsieur le Professeur BEAUVIEUX
1945. Monsieur le Docteur DESQUEYROUX
1945. Monsieur le Docteur E. DUBOURG
1946. Monsieur le Docteur SERVANTIE
1946. Monsieur le Professeur de GRAILLY

Internat

1947. Monsieur le Docteur AUGISTROU
1947. Monsieur le Professeur BONNIN
1948. Monsieur le Docteur PESME
1948. Monsieur le Professeur DUPÉRIÉ
1949. Monsieur le Professeur DUPÉRIÉ
1949. Monsieur le Professeur AUBERTIN
1950. Monsieur le Professeur AUBERTIN
1950. Monsieur le Professeur RIVIÈRE

A Monsieur le Professeur G. DUBREUIL

Membre correspondant de l'Académie de Médecine
Chevalier de la Légion d'honneur
Officier de l'Instruction publique

Mon cher Maître,
Si nous avons pu mener à bien ce modeste travail, nous vous le devons pour une large part. C'est sous votre paternelle direction que nous avons été initié aux techniques histologiques et que nous est venu le goût de la recherche.

A Monsieur le Doyen R. DUPÉRIÉ

Professeur de Clinique médicale
Médecin des Hôpitaux
Officier de la Légion d'honneur
Chevalier de l'Ordre de la Santé publique
Officier de l'Instruction publique

Dans le Service de qui nous avons passé une année d'Internat riche d'enseignements.

A Monsieur le Professeur G. MAYER

Professeur d'Anatomie générale et d'Histologie

Qui nous a fait aimer l'expérimentation et montré combien il est nécessaire de la conduire avec rigueur et de l'interpréter avec prudence.

A Monsieur le Professeur agrégé R. SARIC

Médecin des Hôpitaux

Qui, dès le début de nos études, nous a enseigné la méthode dans l'examen, l'interprétation critique des symptômes, bases nécessaires de la clinique.

A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR AUBERTIN

Professeur de Médecine expérimentale
Médecin des Hôpitaux
Croix de guerre
Officier de l'Instruction publique
Chevalier de l'Ordre de la Santé publique

Mon cher Maître,
Après un an d'Internat dans votre Service, vous m'avez fait l'honneur de me choisir comme assistant. Puissé-je me montrer digne de votre confiance et vous manifester ainsi ma gratitude.

INTRODUCTION

Contribution à l'étude des méthodes de dosage biologique de l'Hormone Thyréotrope (TSH)

En Endocrinologie, la précision des diagnostics dits « biologiques » constitue un idéal vers lequel tendent cliniciens et chercheurs. Si l'on veut s'aventurer dans la complexité biologique, il faut disposer de tests de valeur aussi absolue que possible. Cela est vrai et pour la clinique et pour la recherche expérimentale. Or, si l'on se penche vers les faits cliniques, il est aisé de constater la grande pauvreté de moyens dont nous disposons. Nous ne voulons point entreprendre ici la critique des techniques proposées pour l'évaluation du potentiel fonctionnel des diverses glandes endocrines. Il n'est que de noter au passage les toutes brûlantes discussions sur la valeur à accorder à un examen biologique entré dans la pratique courante : le métabolisme basal. L'exploration fonctionnelle de la pituitaire s'avère une des plus difficiles par le simple fait de la multiplicité des effecteurs que le « cerveau endocrinien » met en jeu, sans parler des autres incitations qui influent à leur tour sur la glande. Par ailleurs, aucune hormone pituitaire, sauf peut-être l'ACTH, n'a été obtenue à l'état pur. Cela n'est pas fait pour simplifier le problème. Enfin, il ne semble pas que, dans ces vingt dernières années, on se soit beaucoup attaché à tester la valeur fonctionnelle des diverses endocrines, alors que pour d'autres organes, le rein et le foie par exemple, d'innombrables travaux ont permis des progrès substantiels.

Ces quelques considérations nous ont incité à apporter une minime contribution à l'exploration fonctionnelle de

la pituitaire. Nous nous sommes limité à l'étude des méthodes de dosage de l'hormone thyréotrope. Nous avons divisé notre travail de la manière suivante :

I. — Etude des techniques publiées de 1930 à 1950.

II. — Examen des résultats cliniques obtenus par ces techniques.

III. — Recherches personnelles. Nous donnerons seulement les détails de la technique à laquelle nous avons fini par nous arrêter. Nous signalerons simplement les quelques constatations cliniques que nous avons pu faire, le temps nous ayant manqué pour tenter d'expliquer certains résultats. Ce sera là l'objet de travaux ultérieurs.

HISTORIQUE

I. — Les techniques.

Aron et Klein (1930) eurent le mérite de proposer la première technique de dosage de l'hormone thyréotrope. Toutes celles qui lui sont postérieures en dérivent plus ou moins directement, à l'exception de quelques-unes. Ces deux auteurs s'exprimaient ainsi : « Dans tous les cas, 15 cc. d'urine ont été injectés en trois jours à des Cobayes d'environ 200 grammes et l'autopsie a été pratiquée le quatrième jour. En vue de la conservation durable dans l'urine du principe actif et de la suppression de certaines causes d'erreur, il est recommandable de chauffer l'urine à 75-80°, puis de la filtrer et d'y ajouter une trace de thymol... Sous l'influence de l'injection d'urine normale, la thyroïde du jeune Cobaye subit une réaction caractéristique consistant en une élévation pondérale de 40 % environ et en des signes d'hyperactivité discrète localisée au centre de l'organe : hypertrophie de l'épithélium vésiculaire, apparition de vacuoles de résorption au pourtour de la colloïde... Cette évolution de la glande se montre plus ou moins accusée selon les cas, mais les limites dans lesquelles elle varie ne sont pas très larges et peuvent être déterminées avec une exactitude satisfaisante, surtout sur la base de l'examen histologique. » Et Aron concluait : « La méthode que je viens d'exposer, intégralement appliquée à des cas où un déséquilibre endocrinien, intéressant la préhypophyse, était suspecté, m'a apporté parfois des indications d'une grande netteté, soit dans le sens d'une réaction thyroïdienne à peu près nulle, soit dans celui

d'une réaction manifestement plus intense que de coutume... Sans doute, cette méthode, assez délicate, exige-t-elle une connaissance très précise des images fournies par la thyroïde normale et l'étude préalable de nombreux témoins. On ne saurait non plus attendre d'elle une précision absolue, étant donné la gamme des variations individuelles où l'âge, le sexe, la concentration de l'urine ainsi que certaines particularités physiologiques (puberté, ménopause) sont susceptibles d'intervenir et dont il faudrait préalablement établir la part. Il n'en reste pas moins avéré que dans les affections accompagnées d'une forte exagération ou d'une forte diminution de l'activité glandulaire de la préhypophyse, les résultats tirés de la réaction que je propose ne semblent pas dépourvus de valeur. »

Nous avons tenu à citer à peu près intégralement ces conclusions d'Aron. Elles montrent bien, en effet, la complexité du problème qui nous occupe. Elles mettent aussi l'accent sur la sensibilité relative de la méthode. Néanmoins, celle-ci a fait l'objet d'un assez grand nombre d'applications pratiques. D'abord de la part d'Aron et de ses collaborateurs, par la suite de Del Castillo (1932), Krogh et Okkels (1933), Smith et Moore (1933), Heyl et Laqueur (1934), Junkmann et Schœller (1934), de Prat (1937), Cope (1938), Emerson et Cutting (1938), Sendrail et Tamalet (1939), Stévenin (1941), Gayral et Dauty (1948). Ces différents auteurs ont utilisé la technique d'Aron, les uns sans y rien changer, les autres en modifiant la qualité des produits injectés. Guyenot, Ponse et Dottrens (1935), Emerson et Cutting (1938) injectent au Cobaye un extrait alcoolique d'urine, Fellinger (1936) un précipité acétonique du sérum sanguin (sérum desséché et redissous dans l'eau distillée à un *p*H très peu différent de 6,0) dans le but d'éliminer l'hormone thyroïdienne circulante.

Tous ces travaux ont abouti rapidement à la définition d'une unité biologique d'hormone thyréotrope. Cette unité fut établie d'après les modifications dans l'aspect histologique de la glande thyroïde, liquéfaction et raréfaction de la colloïde, aspect vacuolaire de cette colloïde, caractère

irrégulier et tourmenté des vésicules, hyperplasie cellulaire, mitoses, hyperhémie. Voici les unités utilisées (1) :

— 100 unités ARON : quantité d'extrait qui, après 36 heures, produit chez le Cobaye de 200 grammes une augmentation pondérale de la thyroïde de 50 à 100 % et fait apparaître des signes d'hyperactivité excrétrice généralisée à tout le parenchyme, allant au centre de la glande jusqu'à l'excrétion totale de la colloïde avec un épaississement de l'épithélium vésiculaire atteignant son maximum ;

— L'unité JUNKMANN-SCHŒLLER : quantité d'extrait qui, injectée pendant trois jours successifs à deux Cobayes de 100 à 150 grammes, provoque le quatrième jour, chez un des deux animaux au moins, un début de prolifération épithéliale avec fonte colloïdale typique. Cette unité paraît valoir deux à trois unités ARON ;

— L'unité HEYL-LAQUEUR est la moitié de la dose qui, injectée deux jours de suite dans le péritoine de jeunes Cobayes (150 à 200 grammes) fait apparaître et même dépasser chez les deux tiers des animaux traités un certain degré défini de développement de l'épithélium thyroïdien et cela quarante-huit heures après la première injection. Cette unité est très voisine de la précédente ;

— L'unité ROWLANDS-PARKES est la quantité d'hormone qui, en cinq jours, double le poids de la thyroïde d'un Cobaye de 200 grammes. Elle vaut 7 à 13 unités JUNKMANN-SCHŒLLER.

Les extraits pituitaires thyréotropes du commerce sont titrés en unités JUNKMANN-SCHŒLLER ou HEYL-LAQUEUR.

RAWSON et STARR ont repris, en 1938, la technique de ARON en cherchant à lui donner une précision et une sensibilité plus grandes. Ils ont ainsi proposé les premiers

---

(1) Divers auteurs ont proposé d'autres bases de dosage de la TSH. Il s'agit, en l'occurrence, de tests indirects rejetés énergiquement par Laqueur et non considérés comme valables depuis lors. Ils avaient amené à la définition de deux types d'unités, l'unité Collip (taux minimum de TSH administré en deux injections qui augmente de 20 % le M. B. de Rats hypophysectomisés depuis quatre jours, et l'unité Cuyler, Stimmel et Mc Cullagh (quantité de TSH qui diminue de moitié l'iodémie habituelle).

l'utilisation de la méthode microhistométrique qui consiste à mesurer au moyen d'un dispositif spécial (micromètre oculaire) la hauteur d'une ou plusieurs cellules épithéliales. L'animal-test est toujours le Cobaye femelle immature, pesant entre 180 et 225 grammes. On injecte l'urine après l'avoir traitée par l'acétone, pendant trois jours consécutifs. Les thyroïdes sont enlevées le quatrième jour et fixées dans le formol neutre à 10 %. L'examen des coupes se fait à l'immersion ; on étudie deux cents vésicules et, dans chacune d'elles, « une cellule représentative est choisie et sa hauteur déterminée au moyen d'un micromètre oculaire ». On fait ensuite la moyenne des chiffres obtenus. De toute évidence, la nécessité s'impose de tester concurremment un nombre important d'animaux témoins. On arriverait ainsi à doser la TSH jusqu'à 0,125 unité JUNKMANN et SCHŒLLER.

Dans le même but que RAWSON et STARR, DE ROBERTIS et DEL CONTE exposent, en 1944, une méthode qui permettrait de déceler la TSH à des taux beaucoup plus faibles que précédemment. On atteindrait l'infime dose de 0,0002 unité JUNKMANN-SCHŒLLER. On prélève le sang que l'on traite ici encore par l'acétone. Le sang hémolysé ainsi traité est injecté dans les cavités cardiaques de Cobayes pesant 150 à 300 grammes. On sacrifie les animaux trente minutes après l'injection. Les thyroïdes sont congelées dans l'isopentane à — 195° C. ou dans l'air liquide, puis desséchées dans le vide à — 30° dans l'appareil de GERSH, traitées à l'alcool absolu pour dénaturer les protéines et incluses à la celloïdine. On soumet les coupes à la coloration par le bleu d'aniline et l'orange G. Le nombre des gouttelettes dans les follicules de la zone interne de la glande est compté et le chiffre total divisé par la somme du diamètre moyen des follicules. Le quotient multiplié par 100 représente le nombre de gouttelettes contenues dans un follicule hypothétique de 100 μ de diamètre. C'est le coefficient cytologique :

$$Cc. = \frac{\text{nombre de gouttelettes} \times 100}{\text{somme des diamètres moyens des follicules.}}$$

Au dire des auteurs, qui avancent d'ailleurs seulement trois dosages chez des sujets normaux, « les résultats ainsi obtenus concordent avec l'histoire clinique et les autres données de laboratoire ». C'est seulement en traitant le sang par la méthode de FELLINGER qu'il est possible d'arriver à des dosages aussi précis de quantités aussi minimes. L'injection de sang total ou de plasma ne produit pas de gouttelette colloïdale intracellulaire. Il est intéressant de constater que le Rat normal répond nettement à l'administration de 0,01 unité JUNKMANN-SCHŒLLER et que le Rat hypophysectomisé est complètement insensible à cette même dose (GRASSO). Aussi ne fûmes-nous guère surpris de voir DVOSKIN (1947) conclure, après des études poussées, à l'absence absolue de caractère spécifique des gouttelettes colloïdales intracellulaires comme témoins de la stimulation par l'hormone thyréotrope.

Il nous faut mentionner maintenant la technique de BASTENIE (1940) basée sur les travaux de DUSTIN et ses élèves sur les poisons caryoclasiques. On injecte à des Cobayes de 200 à 250 grammes 2 cc. d'urine concentrée au dixième et traitée à l'éther, pendant trois jours consécutifs ; le quatrième jour, neuf heures et demie après une injection sous-cutanée de colchicine (25 gammas par 30 grammes de poids) l'animal est sacrifié. Les coupes sont colorées au trichromique de MASSON ; un index mitotique dépassant quatre mitoses pour cent vésicules et amas cellulaires compacts ou une par champ microscopique (Zeiss 40 × 7) correspond à une réaction positive.

GUTHERT, à peu près à la même époque, proposa une technique très voisine de celle de BASTENIE.

On a donc largement utilisé le Cobaye dans le but de doser l'hormone thyréotrope. Mais dès 1932, DEL CASTILLO s'élevait contre l'emploi de cet animal, la zone centrale de ses thyroïdes présentant normalement des signes d'activité excrétrice. Cette critique, COLLARD la formulait non moins explicitement en 1940 : « Avec le Cobaye, le diagnostic d'activation thyroïdienne est ouvert à l'erreur, à cause de la zone centrale normalement hyperactive. » Aussi un cer-

tain nombre d'auteurs ont-ils cherché à mettre au repos ces thyroïdes avant d'utiliser l'animal pour le dosage.

En 1936, DE FRÉMERY, se basant sur le fait que l'iode ou la diiodotyrosine amène l'involution histologique et fonctionnelle de la thyroïde, propose de se servir du Cobaye après préparation par la diiodotyrosine. Malheureusement ELMER (1933) avait antérieurement montré que l'adjonction de diiodotyrosine à l'hormone thyréotrope inhibe l'action de cette dernière. Plus récemment, PURVES et GRIESBACH (1943 et 1949) ont administré au Cobaye une substance thyroïdienne mise en solution par digestion peptique selon la méthode décrite par eux (1943). Ces Cobayes sont âgés de 5 à 7 jours et subissent pendant neuf jours une injection quotidienne équivalente à 10 gammas d'iode. Le sérum à tester est administré à la dose de 2,5 ml. pour 100 grammes de poids d'animal pendant quatre jours consécutifs. La réponse à l'hormone est évaluée d'après les modifications de la hauteur cellulaire, mesurée par la méthode microhistométrique.

STEPHENS (1940) a préconisé l'emploi du Cobaye après l'avoir soumis à deux ou trois semaines de jeûne, car « les changements morphologiques de la thyroïde sous l'influence du jeûne sont absolument semblables à ceux qui suivent l'hypophysectomie... et on connaît l'absence de réponse à l'iodure de potassium chez l'animal à jeun. »

La plupart des auteurs ont préféré abandonner le Cobaye et ont porté leur choix sur les animaux les plus variés. Certains méritent à peine d'être mentionnés. Ils sont, en effet, passibles des critiques que nous formulerons plus loin et, d'autre part, ils nécessitent un ensemble de conditions matérielles souvent difficiles à réaliser. Nous voulons parler des essais faits sur la Couleuvre par MASON (1938), le Poulet par JONES (1939), le Pigeon par BATES, RIDDLE et LAHR (1941), le Poisson rouge par GORBMAN (1941). Signalons aussi pour mémoire les travaux de HELWIG (1933) et de GIEDOSZ (1934) sur le Lapin. Ils n'ont pu être poursuivis, la glande thyroïde du Lapin étant beaucoup plus active que celle du Cobaye.

Le Poussin a fait l'objet de recherches plus approfondies qui ont abouti à la naissance de nouvelles unités d'activité thyréotrope. SMELSER (1937) eut le premier l'idée d'utiliser ces animaux qui paraissent beaucoup plus sensibles que le Cobaye à l'hormone thyréotrope. COPE (1938), KABAC et LIAPIN (1938), BERGMANN et TURNER (1939), COLLARD, MILLS, RUNDLE et SHARPLEY-SCHAFFER (1940), RAWSON et SALTER (1940), DVOSKIN (1947) ont poursuivi les recherches de SMELSER, en modifiant plus ou moins la technique primitive de cet auteur. L'âge des Poussins va de un à vingt et un jours. COPE, KABAC et LIAPIN, BERGMANN et TURNER, COLLARD et ses collaborateurs, appliquent simplement le test d'ARON au Poussin. Les unités proposées furent les suivantes :

— Unité KABAC-LIAPIN : taux de TSH amenant une augmentation de poids des thyroïdes de Poussin de cinq à six jours de 8 milligrammes, après une série d'injections de cinq jours.

— Unité BERGMANN-TURNER : unité-Poussin mâle : taux total d'hormone administré pendant quatre jours qui peut augmenter de 50 % le poids moyen de la thyroïde de vingt Poussins pesant en moyenne 55 grammes ;

— Unité-Poussin femelle : taux qui, dans les mêmes conditions, augmente le poids moyen de la thyroïde de 20 % ;

— Unité ADAMS-BEEMAN : quantité capable d'augmenter de 100 % la hauteur de l'épithélium de la thyroïde de cinq à dix Poussins vingt-quatre heures après une injection unique sous-cutanée.

RAWSON et SALTER appliquèrent, en 1940, leur méthode microhistométrique décrite antérieurement à propos du Cobaye. En 1947 enfin, DVOSKIN chercha à déceler par la méthode de DE ROBERTIS des doses infimes d'hormone thyréotrope ; JUNQUEIRA, quelque temps auparavant, avait eu les plus grandes difficultés pour utiliser cette même technique.

Pour terminer cette rapide étude des techniques, nous dirons quelques mots des travaux de D'ANGELO, GORDON et CHARIPPER. Ces auteurs, frappés par la très relative

sensibilité du Poussin et du Cobaye à l'hormone thyréotrope, ont jeté leur dévolu sur le Têtard. Leurs recherches les ont conduits à définir une nouvelle unité d'activité thyréotrope. C'est le taux minimum d'hormone qui, administré à l'animal non métamorphosé totalement, à jeun, en cinq injections intrapéritonéales à jour passé, peut stimuler la thyroïde, augmenter la longueur de la patte de derrière et entraîner une perte de poids de 50 % plus forte que celle des témoins injectés avec de l'eau. Ce test nécessite chaque fois quinze larves de *Rana Pipiens*. Il serait ainsi possible de détecter le soixantième et même le cent-vingtième du taux habituellement décelé chez le Cobaye.

Il est temps de jeter un coup d'œil d'ensemble sur tous les travaux que nous venons de mentionner. Plusieurs constatations s'en dégagent assez facilement.

Le poids des animaux varie considérablement d'une expérimentation à l'autre. En ce qui concerne le Cobaye par exemple, le poids oscille entre 100 et 300 grammes ; certains auteurs américains ont même eu recours à des animaux de 800 grammes.

Les produits injectés sont très différents les uns des autres : urine non traitée, urine lavée à l'éther, extrait alcoolique d'urine, extrait acétonique d'urine, urine employée après chauffage, sang total, sérum, sang hémolysé et traité par l'acétone. Notons, à propos de la méthode de FELLINGER, qu'elle extrait du sang non seulement l'iode et l'hormone thyroïdienne, mais encore une quantité indéterminée d'hormone thyréotrope. Cet écueil est compensé en partie par la possibilité d'injecter des quantités importantes de sang sous une forme réduite.

Aucun animal, à l'état normal, ne peut être considéré comme possesseur d'une thyroïde au repos complet. Cela est vrai, non seulement pour le Lapin, mais même pour le Cobaye. La zone centrale de la thyroïde de ce dernier animal est nettement active. Cela n'a peut-être pas grosse importance quand on est en présence de fortes quantités d'hormone thyréotrope, mais cela enlève toute valeur à la réaction pour la détection de faibles doses.

On pourrait, à la rigueur, ne pas tenir compte des observations que nous venons de faire. Nous sommes amené maintenant à formuler une critique essentielle. Tous ces travaux sont basés sur la réponse histologique d'une thyroïde d'un animal non hypophysectomisé. Cela explique une partie, une grande partie même, de la confusion qui règne dans le dosage biologique de l'hormone thyréotrope. On souhaiterait voir se multiplier des techniques, peut-être différentes dans certaines de leurs modalités, mais unies par une base commune : l'utilisation exclusive d'animaux pituitoprives. Sans cette indispensable précaution, on ne fera qu'accentuer les difficultés de compréhension d'un problème déjà suffisamment complexe par lui-même. Il saute aux yeux que l'animal dépourvu de sa pituitaire (pituitoprive) constitue l'idéal vers lequel nous devons tendre en attendant que la biochimie ou l'immunochimie nous permettent de disposer de techniques plus sensibles et plus mathématiques que les méthodes biologiques. On sait que ces dernières sont entachées de plusieurs difficultés d'interprétation. Encore faut-il réduire celles-ci à leur plus strict minimum. HERTZ et OASTLER, dès 1936, insistaient sur ce point et, en 1940, COLLARD écrivait : « C'est l'animal hypophysectomisé qui, de façon idéale, devrait être utilisé pour tester les hormones pituitaires afin d'éviter les effets secondaires produits par le matériel injecté en fonction de la pituitaire possédée par l'animal. » Ainsi s'expliquent ces lignes que nous extrayons du tout récent article de DE ROBERTIS : « Le Rat hypophysectomisé est complètement insensible à l'administration de 0,1 unité JUNKMANN-SCHŒLLER, alors que le Rat normal répond à de telles doses (GRASSO). » De même JONES a trouvé le Poussin de un jour plus sensible que le Rat hypophysectomisé à l'injection d'extrait thyréotrope. Mentionnons enfin les recherches de H. SELYE. Le syndrome général de l'adaptation auquel son nom demeurera justement attaché est trop connu actuellement pour que nous insistions davantage. Rappelons simplement que la pituitaire tient une place prépondérante dans le système des réactions mises en jeu par l'organisme en réponse à une agression non spé-

cifique, même minime. On sait qu'elle libère alors une forte proportion d'ACTH. On pense que, temporairement, elle libère aussi une quantité supra-normale d'hormone thyréotrope.

Toutes ces considérations nous amènent à contester la valeur des divers tests proposés depuis ARON et nous engagent à nous tourner vers les méthodes utilisant des animaux hypophysectomisés. Il en existe trois. Nous les passerons en revue dans l'ordre chronologique.

La première en date est celle d'ASTWELL. Cet auteur publie, en 1934, un travail consacré au dosage de l'hormone thyréotrope à l'aide du Têtard hypophysectomisé. Il ne donne pas le détail de sa technique d'hypophysectomie. Il emploie des larves de *Rana Sylvatica* et de *Rana Pipiens*. L'injection de TSH est pratiquée dans le péritoine à raison de 0,05 cc. d'extrait pituitaire pendant six jours consécutifs. On observe alors les phénomènes de métamorphose dont on note les différents caractères. On procède, après sacrifice des animaux, à l'examen histologique de la glande thyroïde. Malheureusement ASTWELL n'a procédé à aucun essai clinique de dosage.

HERTZ et OASTLER consacrent, en 1936, une courte mais précise étude au dosage de l'hormone thyréotrope à l'aide du Rat hypophysectomisé. Ils donnent la technique d'hypophysectomie. L'injection du sang ou de l'urine, dont on cherche à préciser le potentiel thyréotrope, a lieu cinq jours après l'hypophysectomie. Pendant cinq jours, on injecte quotidiennement deux doses de 5 cc. d'urine ou de 1 à 2 cc. de sérum par la voie intramusculaire. Le dixième ou le onzième jour, l'animal est sacrifié. Ni l'urine ni le sang ne font l'objet d'un traitement spécial. Ce travail n'a pas été poursuivi ni par HERTZ et OASTLER ni par quelque autre auteur. Dans un récent article (1947), EVANS revient rapidement sur ce sujet. Il signale que le Rat possède une thyroïde totalement au repos vers le vingtième jour qui suit l'hypophysectomie. Il propose de définir la seule unité d'activité thyréotrope valable : « Une unité de TSH peut être définie comme étant la quantité qui suffit à convertir l'épithélium squameux (de la thyroïde du Rat hypophy-

sectomisé) en une assise de cellules cuboïdales contenant des noyaux sphériques et non aplatis dans un cytoplasme acidophile et vacuolisé. »

Galli-Mainini emploie, en 1943, le Crapaud mâle *Bufo Arenarum*. Le poids de cet animal oscille autour de 150 grammes. La technique d'hypophysectomie n'est pas donnée. L'atrophie de l'épithélium thyroïdien apparaît aux environs du troisième jour qui suit l'ablation de la pituitaire ; mais elle n'est vraiment manifeste que vers le quinzième jour après l'intervention. Enfin, la sensibilité thyroïdienne semble plus grande si les animaux sont soumis au froid. Les injections de sang ou d'urine dont on veut tester l'activité thyréotrope se font dans le sac lymphatique dorsal. Au bout d'un laps de temps, que Mainini ne précise pas, on procède à la thyroïdectomie selon la technique de Magdalena. Les thyroïdes sont fixées au formol, colorées à l'hématoxyline ferrique. On mesure la hauteur de l'épithélium cellulaire en prenant la moyenne de cent cellules réparties dans cinq champs différents de la même préparation. Galli-Mainini estime que ce procédé a les avantages suivants : l'obtention des animaux est aisée et leur prix peu élevé. On les manie facilement au point de vue opératoire. Enfin, ils présentent une image histologique simple et très régulière, du fait du très petit nombre de follicules.

Telles se présentent les méthodes dont disposent actuellement chercheurs et cliniciens. Nous allons maintenant considérer les résultats auxquels elles ont permis d'arriver. Ils sont chaotiques. Nous en savons le pourquoi. Nous laisserons de côté les essais d'appréciation du potentiel en TSH de la pituitaire des animaux les plus divers. Nous noterons seulement qu'il existe au moins sept listes établissant ce potentiel dans l'ordre croissant ou décroissant (Adams et Allen, Lœser, Rowlands et Young, White, Jorgensen et Wade, Foglia, Gorbmann, Keaty et Stanly, etc.). Nous nous intéresserons seulement aux dosages entrepris chez l'Homme normal et dans diverses endocrinopathies, notamment les dysthyroïdies. Cela constituera la deuxième partie de notre travail.

TAUX DE L'HORMONE THYRÉOTROPE CHEZ L'HOMME

A) A L'ÉTAT NORMAL.

Peu de recherches ont été entreprises pour déterminer la valeur moyenne de l'hormone thyréotrope circulante chez un sujet sain. Dans le sérum sanguin, DEL CASTILLO (1932), COLLARD, MILLS, RUNDLE et SHARPLEY-SCHÆFFER (1940), DE ROBERTIS (1948) n'ont pu apprécier de taux appréciables de cette hormone. DE ROBERTIS situe le chiffre normal entre 0,0025 et 0,005 unité JUNKMANN-SCHŒLLER, mais il n'a pratiqué que deux dosages.

Dans l'urine, les tentatives de dosage sont plus nombreuses. KROGH et OKKELS (1933), AUTOGNETTI et GERIOLA (1936) aboutissent à des résultats négatifs, tandis que RAWSON et STARR (1938) constatent l'existence d'une certaine quantité d'hormone chez vingt et un étudiants en médecine. Il n'y a pas, à notre connaissance du moins, d'autres résultats publiés dans la littérature. Notons enfin que tous ces essais ont été effectués sur des animaux non hypophysectomisés. Ils concordent avec les observations de HERTZ et OASTLER (Rat hypophysectomisé) qui n'ont pu déceler l'hormone thyréotrope dans le sang de huit sujets normaux.

B) DANS LES HYPERTHYROIDIES.

Dans ce domaine, beaucoup d'auteurs se sont attachés à doser l'hormone thyréotrope. Cependant le nombre des cas observés reste faible comparativement à la fréquence de cette affection ; est encore plus faible le chiffre des observations correctement étudiées. Presque tous les travaux parlent d'hyperthyroïdie, mais ils précisent rarement les caractères cliniques de ce syndrome. Tant il est vrai qu'il paraît hasardeux de couper le laboratoire de la clinique. Cela est d'autant plus regrettable que la discussion des résultats observés ne peut se faire correctement en l'absence du contexte fourni par la clinique. Ces réserves faites, examinons les résultats obtenus.

Aron et Klein (1930) publient les premières tentatives de dosage de la TSH dans les urines des hyperthyroïdiens ; les résultats sont tantôt positifs tantôt négatifs. Del Castillo (1932) étudie le sérum de six hyperthyroïdiens : quatre cas dans lesquels la recherche de l'hormone est positive, deux cas négative. Krogh et Okkels (1933), dans douze cas, Smith et Moore (1935) dans quatre cas, Autognetti et Geriola (1936), Fellinger (1936) chez un nombre de malades non précisé, Purves et Griesbach (1949) dans dix-neuf cas d'hyperthyroïdie, aboutissent à des résultats négatifs. Les autres auteurs concluent en général à la non-existence de l'hormone thyréotrope dans le sang ou l'urine des malades atteints de thyrotoxicoses, à quelques exceptions près. Ainsi, de Prat (1937), sur cinq hyperthyroïdies, a deux résultats normaux, un négatif et deux positifs ; Emerson et Cutting (1938), deux cas positifs pour cinq négatifs ; Rawson et Starr, deux cas positifs pour douze négatifs ; Collard et ses collaborateurs, deux cas positifs pour neuf négatifs ; de Robertis, quatre cas positifs pour six négatifs.

Terminons par les constatations faites chez les malades atteints d'exophtalmie. Smith et Moore en étudient trois chez lesquels la recherche de la TSH est négative. Collard et ses collaborateurs trouvent un excès de cette hormone chez deux hyperthyroïdiens avec exophtalmie et n'en trouvent pas trace dans deux autres cas d'exophtalmie sans hyperthyroïdie. Offret (1945) rapporte deux essais de dosage, l'un négatif, l'autre positif. Enfin, Purves et Griesbach décèlent un fort excès de TSH dans vingt-sept cas d'exophtalmie maligne.

Si on fait le total des malades étudiés, on aboutit aux chiffres suivants :

— Essais de dosage de l'hormone thyréotrope chez les hyperthyroïdiens : 85 ;

— Résultats positifs : 19, soit 28,78 % ;

— Résultats négatifs . 66, soit 71,22 %.

Ce bilan ne tient pas compte des résultats obtenus par Aron, Autognetti et Geriola, et Fellinger. Ces auteurs.

sauf très rares exceptions, n'ont pas décelé de TSH dans les humeurs des hyperthyroïdiens. Les pourcentages que nous donnons n'ont donc qu'une valeur très relative. Il est bon de noter que ces conclusions sont obtenues à l'aide d'animaux entiers.

Avec les animaux hypophysectomisés, le nombre des investigations s'avère encore plus restreint. Nous n'avons pu, malgré de multiples tentatives, nous procurer le dernier travail de GALLI-MAININI dans lequel il publiait les résultats obtenus avec sa méthode. Le seul travail que nous puissions examiner est celui de HERTZ et OASTLER. Il fait état de sept malades atteints de thyrotoxicose sans élévation du taux de l'hormone thyréotrope circulante.

C) DANS LE MYXŒDÈME.

Les documents sont peu abondants. ARON, STAHL et VAN CAULAERT, AUTOGNETTI et GERIOLA, FELLINGER, THOMPSON, SPENCE n'ont pas publié le chiffre exact de leurs tentatives de dosage. Ils signalent ou bien des résultats constamment négatifs (AUTOGNETTI et GERIOLA, SPENCE), ou bien des résultats variables selon le type de myxœdème : positifs dans les cas de myxœdème post opératoire (FELLINGER, THOMPSON), négatifs dans les myxœdèmes spontanés (ARON, FELLINGER, THOMPSON, SPENCE). De même, BASTENIE n'explicite pas le chiffre des sujets examinés. Il trouve la recherche de l'hormone thyréotrope franchement positive chez les myxœdémateux dont la thyroïde est atrophiée, négative chez ceux dont le *primum movens* se trouve être une insuffisance pituitaire. COPE décèle une forte proportion de TSH dans le sérum sanguin des myxœdémateux, et JONES obtient des résultats variables.

Mentionnons à présent les travaux dont le souci de précision est plus grand. EMERSON et CUTTING ne trouvent pas d'hormone thyréotrope dans quatre myxœdèmes spontanés et six cas de myxœdème post opératoire ; ils en décèlent une forte proportion dans cinq autres myxœdèmes post opératoires. DE PRAT publie deux recherches positives,

une négative et une donnant un chiffre normal. COLLARD et ses collaborateurs sont conduits aux mêmes constatations : sur trois myxœdèmes spontanés, un cas positif ; sur cinq myxœdèmes post opératoires, deux cas positifs. DE ROBERTIS publie deux cas positifs et deux négatifs ; GRIESBACH et PURVES cinq fortement positifs.

Enfin, HERTZ et OASTLER ont étudié neuf sujets myxœdémateux dont un ne semblait pas avoir d'hormone thyréotrope dans le sang et les urines et les huit autres étaient remarquables par la très grande abondance de cette hormone.

Au total, quarante-six tentatives de dosage, vingt-cinq résultats positifs (54,3 %) et vingt et un résultats négatifs (45,7 %).

Ces pourcentages ont la même relativité que les précédents.

RECHERCHES PERSONNELLES

Nous avons cherché depuis deux ans à mettre au point une méthode pratique de dosage de l'hormone thyréotrope dans les humeurs, en nous basant sur le principe fondamental que nous avons précédemment défendu, à savoir que seuls sont utilisables les animaux pituitoprives. Nous exposerons d'abord la technique proprement dite et, dans un deuxième temps, les résultats obtenus.

Le choix de l'animal-test est le premier problème à résoudre. La banale Grenouille des marais *(Rana Esculenta)*, nous semble un matériel particulièrement adéquat pour un certain nombre de raisons. Son prix de revient est extrêmement faible, ses conditions de vie simplifiées, ses exigences alimentaires réduites, pour ne pas dire nulles. Par ailleurs, en raison de son faible poids (10 à 12 grammes en moyenne) et de ses petites dimensions, il est possible d'en grouper un très grand nombre dans des bassins peu importants, qui servent de réserve.

Les Grenouilles que nous utilisons sont des mâles ; mais l'expérience nous a montré que l'emploi de Grenouilles femelles ne modifie en rien la réponse thyroïdienne chez l'animal hypophysectomisé ; cependant, pour opérer dans les conditions les plus rigoureuses possible, nous avons tenu à éliminer les Grenouilles femelles. Tous les animaux sont arrivés au stade de la maturité sexuelle.

Pour être complet, il nous faut noter maintenant que certains inconvénients sont inhérents à la nature de l'animal choisi. Un certain nombre de Grenouilles ne supportent pas la vie dans les bassins de laboratoire, et cela pour des raisons qui nous échappent ; il faut compter une mortalité

de 20 % environ, pourcentage qui ne nous semble pas augmenté par l'hypophysectomie. Enfin, il faut savoir que, de novembre à mars, on se procure difficilement ces animaux dont le taux de mortalité est alors considérable dans les conditions de vie du laboratoire. Ces considérations nous engagent à l'utilisation exclusive de Grenouilles plus volumineuses (au moins une trentaine de grammes) dont la vitalité est beaucoup plus grande ; même hypophysectomisées, il est banal de les conserver plus de trois mois au laboratoire. Leur obtention pose quelques problèmes pratiques que nous nous attachons à résoudre pour qu'il soit possible d'en disposer tout au long de l'année. Signalons pour terminer que le poids de l'animal ne modifie en rien les conditions expérimentales sur lesquelles nous allons maintenant insister.

TECHNIQUE DU DOSAGE

Elle comporte cinq phases successives :

— L'hypophysectomie ;

— La détermination des délais d'utilisation de l'animal pituitoprive ;

— Les modalités d'injection du produit à tester ;

— La thyroïdectomie bilatérale ;

— L'étude histologique de la réponse thyroïdienne à l'injection du liquide (sérum ou urine) à tester.

I. — L'HYPOPHYSECTOMIE.

Avant l'intervention, il est préférable d'anesthésier l'animal ; mais cette anesthésie doit être extrêmement légère, sinon la mortalité post opératoire immédiate ou tardive est considérable. Il suffit d'introduire la Grenouille dans un flacon de petites dimensions, au fond duquel se trouve un morceau de coton très légèrement imbibé d'éther anesthésique. Au bout de quelques secondes, on extirpe l'animal et on le fixe sur une plaque de liège au moyen de caoutchouc tendus au ras de la plaque entre deux épingles ordinaires.

Nous pratiquons l'hypophysectomie sous loupe binoculaire selon la technique, légèrement modifiée, de SERVANTIE, CAMBAR, MORETTI et BONNAL. L'instrumentation comporte seulement des ciseaux droits très fins, une petite pince à griffes et une pince à disséquer sans griffe qui sert de porte-coton ; nous n'insistons pas sur la technique d'hypophysectomie, renvoyant pour cela à l'étude que nous venons de citer. En général, nous enlevons la pituitaire et aussi la *pars intermedia*, en évitant de dilacérer le tissu nerveux avoisinant. Au total, l'intervention ne dure pas plus de deux ou trois minutes.

II. — DÉLAIS D'UTILISATION DES ANIMAUX PITUITOPRIVES.

Les recherches que nous avons entreprises visent à la détermination qualitative et quantitative de l'hormone thyréotrope. Pour obtenir des réponses quantitatives suffisamment précises, il est indispensable que la glande thyroïde de l'animal-test soit au repos maximum. En vue de connaître le laps de temps nécessaire à l'obtention de ce repos maximum après l'hypophysectomie, nous avons procédé de la manière suivante : nous avons thyroïdectomisé les animaux par séries de dix, quarante-huit heures, quatre jours, six jours, huit jours, dix jours, quinze jours, vingt jours et un mois après l'hypophysectomie. Nous avons reproduit un certain nombre de microphotographies auxquelles le lecteur voudra bien se reporter et qui permettent de juger des progrès de l'involution thyroïdienne après l'intervention. Les premiers signes d'involution apparaissent vers le deuxième ou troisième jour qui suit l'hypophysectomie ; dès ce moment, on note chez la plupart des animaux la disparition des vacuoles dites de résorption et des amas interstitiels. Vers le septième ou huitième jour, les modifications s'accentuent ; les vésicules sont beaucoup plus volumineuses, régulières ; les noyaux sont déjà petits, fortement teintés par l'hématéine, en voie de pycnose ; la colloïde se colore fortement. Au dixième jour, l'aplasie ne semble pas plus importante, mais on note un début d'envahissement du parenchyme thyroïdien par le tissu

conjonctif. Entre le quinzième et le trentième jour après l'hypophysectomie, la tendance involutive et aplasique ne s'accentue que très faiblement. Nous n'avons pas poussé nos investigations au delà de un mois.

En conclusion, nous pensons que l'on peut commencer à utiliser les Grenouilles hypophysectomisées à partir du quinzième jour qui suit l'hypophysectomie. Ces résultats concordent avec ceux de G. MAININI ; cet auteur constate que, chez le Crapaud *Bufo Arenarum* pesant en moyenne 150 grammes, l'atrophie de l'épithélium thyroïdien apparaît à partir du troisième jour ; elle est manifeste le seizième jour.

III. — MODES D'INJECTION DU PRODUIT A TESTER.

L'injection d'hormone thyréotrope à la Grenouille obéit à un certain nombre de règles générales. On peut injecter l'hormone dans le sac lymphatique dorsal de l'animal, et c'est ainsi que procèdent presque tous les expérimentateurs. Pour ce faire, il nous paraît prudent d'utiliser une longue aiguille très fine que l'on glisse sous la peau de l'animal au niveau du tiers inférieur de la cuisse et que l'on remonte ensuite jusqu'au sac lymphatique dorsal. On évite ainsi la fuite du liquide injecté par l'orifice de ponction. Le sac lymphatique dorsal contient facilement 2 cc. de liquide. Nous avons eu aussi recours à la voie intrapéritonéale ; enfin, en conformité avec les travaux de CHAMPY sur la réceptivité hormonale, nous avons, chez quelques animaux, injecté l'hormone au contact même de la thyroïde. Aucune de ces différentes voies d'injection ne paraît préférable. Il nous semble que l'on peut les utiliser indifféremment.

Les hormones thyréotropes du commerce (Organon et Hoffmann-Laroche [1]), injectées par l'une ou l'autre voie que nous venons de mentionner, sont mal supportées par

---

(1) Nous tenons à remercier très spécialement les Laboratoires Hoffmann-Laroche qui nous ont aidé dans l'élaboration de ce travail, notamment en nous faisant parvenir d'importantes quantités de « Préglandol ».

la Grenouille dès que la quantité injectée dépasse vingt unités Cobayes ; dans ces conditions, les animaux meurent en quelques minutes ou en quelques heures. Le fait entraîne une impossibilité absolue d'établir une gamme étalon au-dessus de vingt unités. Cela n'a pas de conséquences pratiques pour les dosages cliniques ; il suffit alors de diluer progressivement le sérum ou l'urine dont on cherche le titre en hormone thyréotrope jusqu'à obtention de la plus faible dilution capable de réactiver de façon sensible l'aplasie thyroïdienne d'animaux hypophysectomisés depuis au moins quinze jours.

Par contre, l'hormone thyréotrope « naturelle » est remarquablement tolérée par la Grenouille. Nous avons ainsi noté une réponse thyroïdienne extraordinairement intense avec le sang d'une malade sans que l'animal en parût tant soit peu incommodé. D'une manière générale, le sérum sanguin ne nous a paru d'aucune toxicité. Nous injectons couramment 1 à 2 cc. sans aucun incident, quantité énorme si on se réfère au poids de l'animal qui est de 12 grammes en moyenne. L'urine est moins bien tolérée ; nous dépassons rarement 1 cc.

IV. — Thyroidectomie.

Avec le Crapaud *Bufo Arenarum*, Magdalena et G. Mainini arrivent à l'ablation isolée de la thyroïde. Chez la Grenouille, les glandes sont tellement petites que si, opératoirement, la chose est facile, il est impossible de les traiter ensuite par les méthodes histologiques habituelles. Les thyroïdes sont situées de part et d'autre des cornes latérales de l'os hyoïde, entre les muscles les plus internes du plan profond du plancher buccal. Pour les enlever, il est indispensable de disposer d'une loupe binoculaire. Après quelques tâtonnements, nous nous sommes décidé à enlever en bloc tout le plancher buccal, le coup de ciseau postérieur passant le plus près possible des deux thyroïdes. En définitive, on obtient une pièce triangulaire à base postérieure juxta-thyroïdienne et à sommet antérieur. Les animaux sont tués à l'éther, puis opérés.

Reste à déterminer le délai qui doit s'écouler entre l'injection de l'hormone thyréotrope et la thyroïdectomie ; GALLI-MAININI reste muet sur ce point. Chez le Cobaye, STARR et METCOFF (1941) ont montré qu'une simple injection sous-cutanée d'hormone thyréotrope amène une nette augmentation de la hauteur cellulaire moyenne des acini au bout de huit à seize heures, comparable à celle notée soixante-douze heures après une série d'injections quotidiennes. Cette réponse persiste au moins quarante-huit heures après l'injection. Cette constatation n'a pas été infirmée et tous les auteurs, chez tous les animaux-tests, laissent s'écouler vingt-quatre heures entre la dernière injection et la thyroïdectomie. Nous avons repris ces données en les appliquant à la Grenouille ; nous avons injecté des doses fixes d'hormone thyréotrope et sacrifié en série les animaux, une, deux, six, douze et vingt-quatre heures après l'injection. Un début de réponse s'amorce dès la première heure avec les grosses doses et, pour les doses faibles ou moyennes, le délai de vingt-quatre heures nous a paru le plus satisfaisant et en même temps le plus pratique.

V. — TECHNIQUE HISTOLOGIQUE.

Elle se réduit au minimum. Nous utilisons le liquide de HELLY comme fixateur ; nous y laissons les pièces pendant six heures. Lavage à l'eau, puis à l'alcool iodé, inclusion à la paraffine. Coloration des coupes à l'hématéine-éosine.

L'activité thyroïdienne est jugée d'après les critères considérés comme les témoins de la stimulation par l'hormone thyréotrope : accroissement du nombre des îlots interstitiels, augmentation de la hauteur cellulaire, diminution du volume vésiculaire, faible colorabilité de la colloïde.

Un des avantages de la Grenouille réside en la simplicité structurale de l'image thyroïdienne. GALLI-MAININI a insisté sur ce point. Le nombre des follicules est en effet peu important, une douzaine en moyenne. Selon l'intensité de la stimulation, tout ou partie de la glande manifeste des signes d'hyperactivité.

RÉSULTATS

Nous avons procédé à environ quatre-vingts dosages chez l'Homme (chiffre que nous avons délibérément limité) tant sur le sérum que sur l'urine. Vingt sujets normaux ou indemnes de toute dysthyroïdie ont servi de témoins. Chez aucun d'entre eux il n'a été possible de déceler des traces bien nettes d'hormone thyréotrope. Ces résultats concordent avec ceux de tous les auteurs précédents, sauf RAWSON, qui avait constaté la présence indiscutable de l'hormone dans les urines de vingt et un étudiants en médecine normaux.

Dans le cadre de la pathologie, nous avons cherché à déceler un excès d'hormone thyréotrope dans l'urine de dix hyperthyroïdiens et le sang de huit malades du même type. Enfin, deux myxœdémateux ont pu être testés.

I. — DANS LES HYPERTHYROIDIES.

Tous nos cas étaient des maladies de Basedow authentiques : exophtalmie importante, goitre diffus, amaigrissement considérable, enfin évolution aiguë. Avec le sérum, nous avons eu trois réactions positives et cinq négatives ; avec les urines, trois tests franchement positifs sur dix essais.

II. — DANS LE MYXŒDÈME.

Nous n'avons pratiqué que deux dosages. Chez une femme de 40 ans, myxœdémateuse typique, nous avons pu détecter une quantité énorme d'hormone thyréotrope. Après trois mois de traitement, l'hormone n'a pu être retrouvée dans le sang. Par contre, chez un enfant de 10 ans, nous n'avons pas constaté la présence d'un excès de TSH. Il s'agissait pourtant d'un myxœdème comme on en voit rarement à l'heure présente.

INTERPRÉTATION

Nous avons volontairement réduit le nombre de nos essais cliniques, désireux en effet d'avoir au préalable notre technique bien en mains.

Par ailleurs, les recherches expérimentales de RAWSON, STERNE et AUB (1943), ALBERT, RAWSON, MERRILL, RIDDEL, LENNON (1945) nous semblent à prendre en considération avant de tenter l'interprétation des résultats obtenus. Nous n'insisterons pas beaucoup sur ces points que nous comptons ultérieurement développer. Mentionnons seulement que RAWSON, STERNE et AUB ont démontré l'inactivation de l'hormone thyréotrope par le tissu thyroïdien normal. Ce phénomène est au moins deux fois plus important quand l'hormone thyréotrope est mise en contact avec un parenchyme thyroïdien de maladie de Basedow. Cette constatation oblige à une première réserve en présence d'un test négatif, d'autant plus que peu de critiques peuvent se formuler à l'égard de ces travaux. Ces derniers ont montré aussi que le tissu des ganglions lymphatiques et du thymus fixent l'hormone thyréotrope dans des proportions presque égales à celles de la thyroïde. Une deuxième réserve se présente donc, c'est celle qui consiste à émettre un doute sur l'état fonctionnel du système réticulo-endothélial du malade. La thèse de Pierre GUILLAUME (1950) aidera à mieux comprendre cet aspect du problème. Peut-être y aurait-il intérêt, dans ces conditions, à explorer dans la mesure du possible le système réticulo-endothélial des malades dont on demande un dosage quantitatif de l'hormone thyréotrope dans le sang ou les urines.

ALBERT, RAWSON, MERRILL, RIDDEL et LENNON se sont attachés à un autre aspect de la question. Ils pensent que l'hormone thyréotrope s'élimine dans les urines sous une forme inactive. En chauffant l'urine ou en la traitant par des agents réducteurs légers, on obtiendrait une activation thyroïdienne très supérieure à celle qui suit l'injection d'urines non traitées.

Cela constitue donc, à notre avis, une troisième difficulté d'interprétation des résultats obtenus.

Enfin, il nous faut signaler une quatrième objection qui se fait jour dans de nombreux travaux. Beaucoup d'auteurs se refusent à injecter le sérum sanguin sans l'avoir traité au préalable, parce que, disent-ils, on administre à l'animal, non seulement l'hormone thyréotrope, mais encore la thyroxine dont on sait l'action inhibitrice sur la sécrétion pituitaire. FELLINGER a, dans ce sens, proposé une méthode d'extraction de l'hormone thyréotrope du sang circulant par l'acétone. Notons que, de l'avis même de cet auteur, la technique enlève aussi une minime quantité d'hormone thyréotrope. Mais on sait depuis longtemps que la thyroxine diminue l'activité thyréotropique par l'intermédiaire de la pituitaire. L'objection précitée perd donc sa valeur quand on emploie des animaux pituitoprives.

En conclusion, il nous paraît inutile de compliquer le problème du dosage de l'hormone thyréotrope en cherchant à extraire l'hormone par telle ou telle technique.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous proposons un test de dosage de l'hormone thyréotrope à l'aide de la Grenouille hypophysectomisée *(Rana Esculenta)*. Il est basé sur la réponse histologique de la thyroïde de cet animal après hypophysectomie. Cette dernière se fait selon la technique de SERVANTIE et de ses collaborateurs. Les animaux sont utilisables quinze jours après l'ablation de la pituitaire. L'injection du produit dont on cherche à déterminer l'activité thyréotrope se pratique dans le sac lymphatique dorsal ou dans le péritoine de l'animal. La thyroïdectomie bilatérale a lieu vingt-quatre heures après cette injection. L'interprétation des coupes histologiques est basée sur les tests morphologiques classiquement considérés comme le reflet de l'activité thyréotrope de la pituitaire.

Ce test nous paraît avoir les avantages suivants :

— Facilité d'obtention des animaux ;

— Minimum d'installation matérielle ;

— Facilité de l'hypophysectomie ;

— Simplicité de l'image structurale de la thyroïde ;

— Possibilité d'injection de très importantes quantités de sérum ou d'urine.

Un certain nombre d'inconvénients ont été soulignés. Ils doivent disparaître, à condition d'apporter quelques perfectionnements permettant une meilleure adaptation des Grenouilles aux conditions de vie du laboratoire.

Nous avons rapporté un certain nombre d'essais de dosage de la TSH dans les dysthyroïdies. Il nous semble difficile pour le moment d'apprécier à leur valeur exacte les réponses fournies par ce test. Cela tient à un certain nombre de raisons que nous exposons brièvement et qui constituent autant de lignes de recherches dans lesquelles nous pensons pouvoir nous engager.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirai et les soignerai sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes ; si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu :
Le Doyen,
G. PORTMANN.

Vu :
Le Président du Jury,
E. AUBERTIN

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Bordeaux, le 11 Décembre 1950.

P[r] *Le Recteur,*
Le Vice-Président du Conseil de l'Université,
R. POPLAWSKI.

BIBLIOGRAPHIE

Aron (M.). — « Action de la préhypophyse sur la thyroïde chez le Cobaye » (*C. R. Soc. Biol.*, 1929, CII, 682-84).

— « Méthode biologique de diagnostic d'hyperactivité ou d'hypoactivité de la préhypophyse chez l'Homme » (*C. R. Soc. Biol.*, 1930, CV, 585-86).

Aron (M.), Van Caulaert (C.) et Stahl (J.). — « L'équilibre entre l'hormone préhypophysaire et l'hormone thyroïdienne dans le milieu intérieur à l'état normal et pathologique » (*C. R. Soc. Biol.*, 1931, CVII, 64-66).

Adams (A.-E.). — « Variations in the potency of thyrotropic hormone of the pituitary animals » (*Quart. Rev. Biol.*, 1946, XXI, 1-32).

Anderson (E.-M.) et Collip (J.-B.). — « Studies on physiology of thyrotropic hormone of anterior pituitary » (*J. of Physiology*, 1934, LXXXII, 11-25).

Astwell (W.-J.). — « Effects of thyrotropic and adrenotropic hormones on hypophysectomized frog tadpoles » (*Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1934, XXXII, 404).

Bastenie (P.-A.). — « Détection de l'hormone thyréotrope dans les urines. Méthodes et résultats » (*Arch. Internat. Médec. Expér.*, 1940, XIV, 111-22).

Bates (R.-W.), Riddle (O.) et Lahr (E.-L.). — « A strain differences in responsiveness of chick thyroids to thyrotropin and a stepwise increase during three years in thyroid weigts of Carneau pigeons » (*Endocrinology*, 1941, XXIX, 492-97).

Bergmann (A.-J.) et Turner (C.-W.). — « A comparison of the guinea pig and chick thyroid in the assay of the thyrotropic hormone » (*Endocrinology*, 1939, XXIV, 656-64).

Borell (U.). — « Transport route of thyrotropic hormone, occurence of later in different parts of brain and its effects on the thyroid. Investigations of |utility of various methods for proving small quantities of thyrotropic hormone » (*Acta Med. Scandin.*, 1945, suppl. 161, 1-227).

Del Castillo (E.-B.) et Magdalena (A.). — « Hypophyse et thyroïde. Pouvoir excito-thyroïdien du sérum sanguin » (*C. R. Soc. Biol.*, 1931, CVIII, 917).

Collip (J.-B.). — « Corticotropic (adrenotropic), thyrotropic and parathyrotropic factors » (*J.A.M.A.*, 1940, CXV, 2073-79).

COPE (C.-L.). — « The young chick as test for thyrotropic hormone » (*J. of Physiology*, 1938, LXXXXIV, 358-364).

— « The anterior pituitary in Graves' disease and in myxœdema » (*Quart. J. Med.*, 1938, VII, 151-70).

COLLARD (H.-B.), MILLS (F.-H.), RUNDLE (F.-F.) et SHARPEY-SCHAFER (E.-P.). — « Thyrotropic hormone in the blood » (*Clinical Science*, 1940, IV, 323-330).

CUYLER (W.-K.), STIMMEL (B.-F.) et MAC CULLAGH (D.-R.). — « Quantitative studies with the thyrotropic hormone » (*J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1936, LVIII, 286-293).

D'ANGELO (S.-A.), GORDON (A.-S.) et CHARIPPER (H.-A.). — « Thyrotropic hormone assay in the tadpole » (*Endocrinology*, 1942, XXXI, 217-25).

DVOSKIN (S.). — « Intracellular colloid droplets as a basis for thyrotropic hormone assay in chick » (*Endocrinology*, 1947, XLI, 220).

ELMER (A.-W.). — « L'action de la diiodotyrosine et de l'iode inorganique sur la thyroïde du Cobaye soumis à des injections d'hormone pré-hypophysaire (thyréostimuline) » (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, CXIV, 348).

EMERSON (K.-J.-R.) et CUTTING (W. C.). — « Urinary thyrotropic hormone » (*Endocrinology*, 1938, XXIII, 439-445).

FELLINGER (K.). — « Klinische und experimentëlle Untersuchungen über das Verhalten und die Bedeutung des thyreotropen Hormons in Blute » (*Wien. Arch. inn. Med.*, 1936, XXIX, 375-406).

FREMERY (P. DE). — « Die Wirkung des diiothyrosins auf die Ratenschildrüse » (*Acta Brev. Neerland*, 1935, V, 35-36).

GALLI-MAININI (C.). — « La tiroides del sapo para la medicion de la hormona tirotropa » (*Rev. Soc. Argent. Biol.*, 1943, XIX, 210-16).

GAYRAL (L.) et DAUTY (R.). — « L'élimination de la substance thyréotrope au cours des grandes carences hypophysaires » (*Ann. Endocrinologie*, 1948, IX, 276).

GIEDOSZ (B.). — « Uber thyreotrope Substanzen in menslichen Harn » (*Klin. Woch.*, 1934, XIII, 1507).

GORBMAN (A.). — « Suitability of the commun goldfish for assay of thyrotropic hormone » (*Proc. Soc. Exper. Biol. Med. N. Y.* 1940, XLV, 772-73).

GORDON (A.-S.), GOLDSMITH (E.-D.) et CHARIPPER (H.-A.). — « Thyrotropic hormone content of the blood sera and pituitary glands of thiourea sulfadiazin treated and thyroidectomized rats » (*Endocrinology*, 1945, XXXVI, 53-61).

GRIESBACH (W.-E.) et PURVES (H.-D.). — « The assay of thyrotropic activity by the cells height response in guinea pigs » (*Brit. J. Exper. Path.*, 1943, XXIV, 185-92).

GRUMBRECHT (P.). — « Die Ausscheidung thyreotrop wirksamer Substanz im Harn Klimaterischer Frauen » (*Zentralb. f. Gynak.*, 1935, LIX, 1331-36).

GUTHERT (H.). — « Der Einfluss von Hypophysenvorderlappenextrakten und Colchicin auf Kerngrësze und Kernteilung in der Schilddrüse » (*Arch. Path. Anat.*, 1940, CCCVII, 37-70).

GUYENOT (E.), PONSE (K.) et DOTTRENS (E.). — « Action physiologique et séparation des hormones auxogène, crinogène et thyréostimulante de l'hypophyse » (*Arch. Histo. Embryo.*, 1935, XX, 15-218).

HELLWIG (C.-A.). — « Histologic changes in thyroid gland of rabbit following injection of urine » (*Arch. Pathol.*, 1933, XV, 321-29).

HERTZ (S.) et OASTLER (E.-G.). — « Assay of blood and urine for thyrotropic hormone in thyrotoxicosis and myxœdema » (*Endocrinology*, 1936, XX, 520-25).

HEYL (J.-G.) et LAQUEUR (E.). — « Zur quantitativen Bestimmung des thyreotropen Wirkung von Hypophysenvorderlappenpräparaten und die Einheit des thyreotropen Hormons » (*Arch. Intern. Pharmacodynam.*, 1934, XLIX, 338-54).

JONES (M.). — « A study of thyrotropic hormone in clinical states » (*Endocrinology*, 1939, XXIV, 663-71).

JUNKMANN (K.) et SCHŒLLER (W.). — « Uber das thyreotrope Hormon des Hypophysenvorderlappens » (*Klin. Woch.*, 1934, XI, 1176-77).

KROGH (M.) et OKKELS (H.). — « L'hormone thyréostimulante préhypophysaire est-elle présente dans l'urine ? » (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, CXIII, 635-38).

LAMBIE (C.-G.). — « The thyreotrophic hormone and its relation to clinical syndrome » (*Med. J. Australia*, 1939, XII, 819-55).

LOESER (A.). — « Hyperthyroidism and thet hyrotropic hormone of the pituitaries » (*Brit. Med. J.*, 1937, I, 1276-78).

MASON (E.-M.). — « Assay of thyrotropic hormone » (*Nature*, 1938, CXLII, 480-81).

OFFRET (M.-C.) et CFFRET (G.). — « L'exophtalmie maligne de la maladie de Basedow (étude pathogénique et thérapeutique) » (*Arch. d'Ophtalm.*, 1945, V, 429-482).

PAAL (H.) et KLEINE (H.-O.). — « Uber die Abhängigkeit der Schildrüsen-funktion von alimentären und hormonalen Faktoren » (*Beitr. Path. Anat.*, 1933, XCI, 322-42).

PRAT (J. DE). — *Etude critique du test pré-hypophysaire d'Aron* (thèse de médecine de Paris, 1937).

PURVES (H.-B.) et GRIESBACH (W.-E.). — « Thyrotropic hormone in thyrotoxicosis, malignant exophtalmos and myxœdema » (*Brit. J. Exper. Pathol.*, 1949, XXX, 1).

RAWSON (R.-W.) et STARR (P.). — « Direct measurement of height of thyroid epithelium. A method of assay of thyrotropic substance. Clinical application » (*Arch. Intern. Méd.*, 1938, LXI, 726-38).

RAWSON (R.-W.) et SALTER (W.-T.). — « Microhistometric assay of thyrotropic hormone in day-old chicks » (*Endocrinology*, 1940, XXVII, 155-57).

ROBERTIS (E. DE) et DEL CONTE (E.). — « Metodo citologica para la determinacion de la hormona tireotropa de la hipofisis » (*Rev. Soc. Argent. Biol.*, 1944, XX, 88-99).

ROBERTIS (E. DE). — « Assay of thyrotropic hormone in human blood » (*J. Clin. Endocrinology*, 1948, VIII-, 956-66).

ROWLANDS (J.-W.) et PARKES (A.-S.). — « Quantitative study of the thyrotropic activity of the pituitary gland » (*Biochem. J.*, 1934, XXVIII, 1829-43).

SEIDLIN (S.-M.). — « The metabolism of the thyrotropic and gonadotropic hormones » (*Endocrinology*, 1940, XXVI, 696-702).

SERVANTIE (L.), CAMBAR (R.), MORETTI (G.-F.) et BONNAL (R.). — « Technique d'hypophysectomie chez la Grenouille. Mise en application du test des mélanophores. Causes d'erreur. Intérêt » (*Biologie Méd.*, janv. 1947).

SMELSER (G.-K.). — « Assay of thyrotropic hormone on day-old chicks » (*Proc. Soc. Exper. Biol. N. Y.*, 1937, XXXVII, 388-390). — « Chick thyroid responses a basis for thyrotropic hormone assay » (*Endocrinology*, 1938, XXIII, 429-38).

SMITH (M.-G.) et MOORE (C.-R.). — « Is ant. Pituitary hormone demonstrable in urine of Graves' disease, in urine of guinea pigs injected with ant. pituitary extract ? » (*Proc. Soc. Exper. Biol. N. Y.*, 1933, XXX, 735-39).

STARR (P.) et RAWSON (R.-W.). — « A graphic representation of thyroid response to stimulation by thyrotropic hormone » (*Proc. Soc. Exper. Biol. N. Y.*, 1937, XXXV, 603-05).

STARR (P.), SMALLEY (R.-E.), DOTY (E.) et PATTON (H.). — « The microhistometric method applied to thyrotropic hormone assay » (*West. J. Surg. Obst. Gyn.*, 1939, XLVII, 65-75).

STEPHENS (E.). — « The effect of thyrotropic principle of the anterior pituitary on the thyroid of undernourished guinea pig » (*Endocrinology*, 1940, XXVI, 485-92).

STEVENIN (H.). — « Valeur clinique de la réaction thyréotrope » (*Ann. d'Endocrinologie*, 1941, IV-V, 277-78).

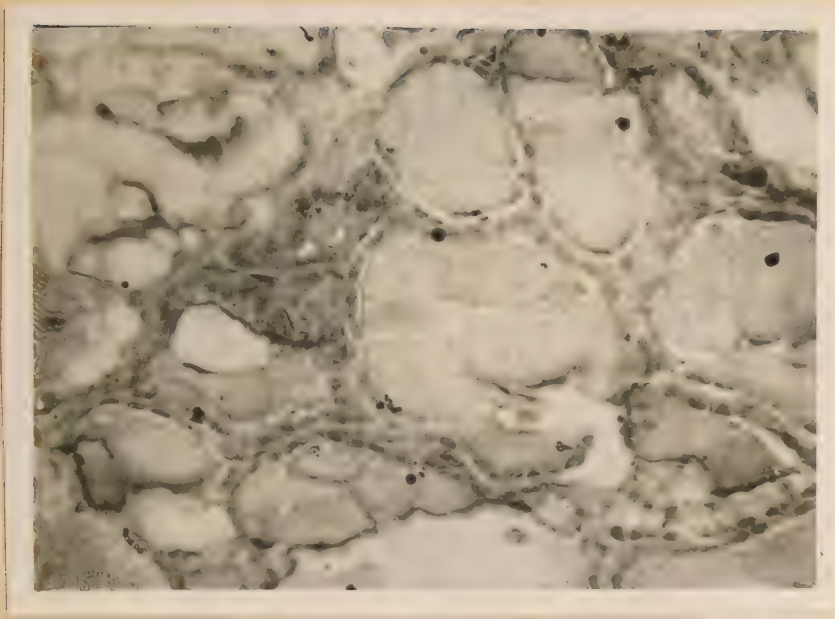

FIGURE 1.

Image histologique de la thyroïde d'une Grenouille mâle normale.

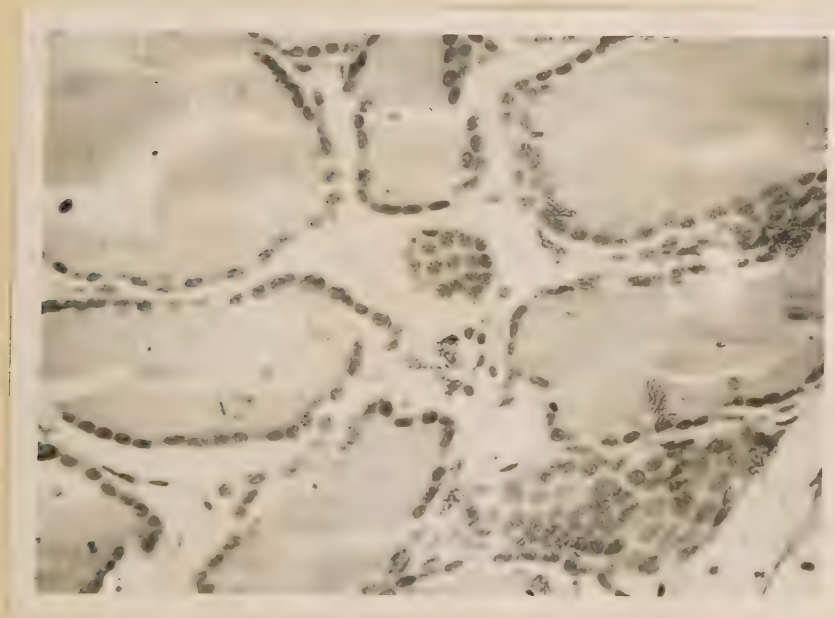

FIGURE 2.

Structure thyroïdienne deux jours après l'hypophysectomie.

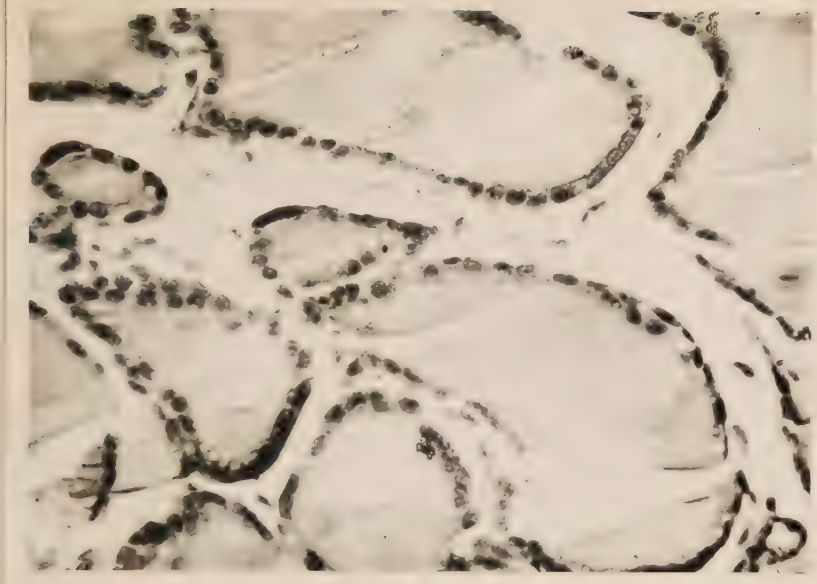

FIGURE 3.

Structure thyroïdienne quatre jours après l'hypophysectomie.

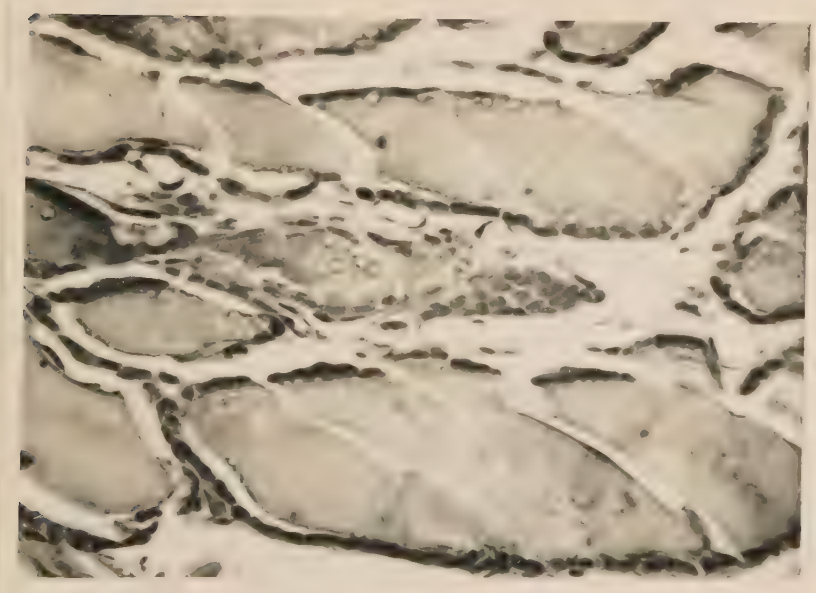

FIGURE 4.

Structure thyroïdienne sept jours après l'hypophysectomie.

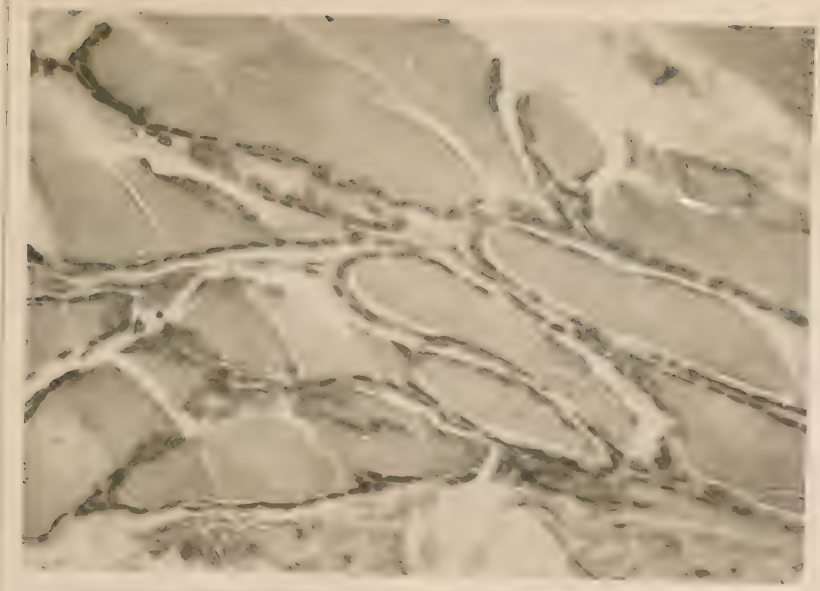

FIGURE 5.
Structure thyroïdienne dix jours après l'hypophysectomie.

FIGURE 6.
Structure thyroïdienne quinze jours après l'hypophysectomie.

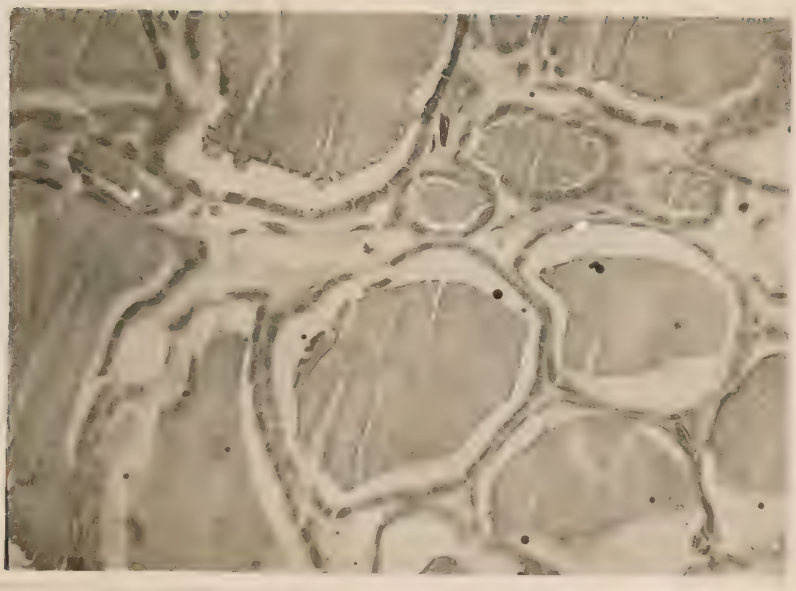

FIGURE 7.

Structure thyroïdienne vingt jours après l'hypophysectomie.

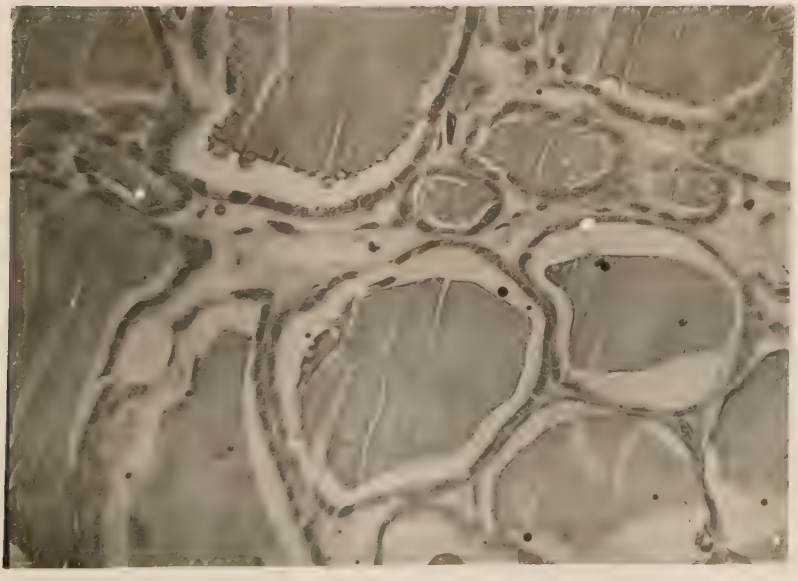

FIGURE 8.

Structure thyroïdienne un mois après l'hypophysectomie.

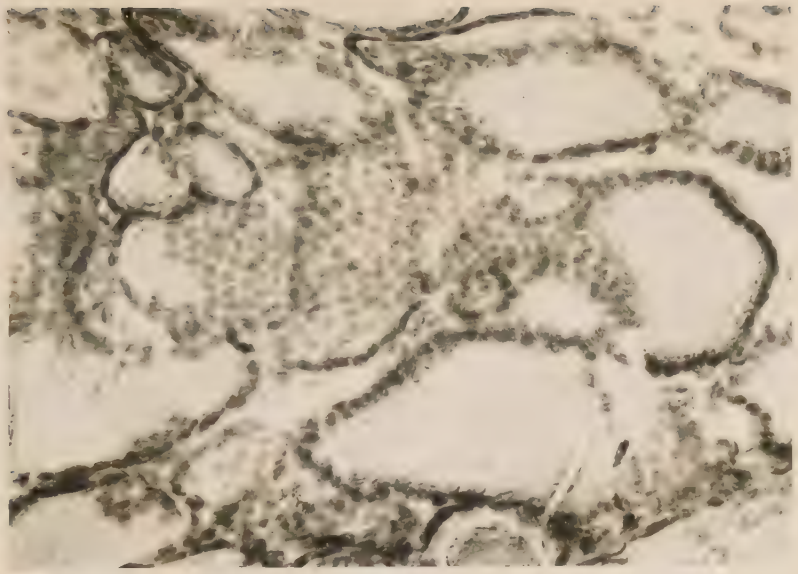

FIGURE 9.

Maladie de Basedow. Injection de 1 cc. d'urine dans le sac lymphatique dorsal. Réponse fortement positive.

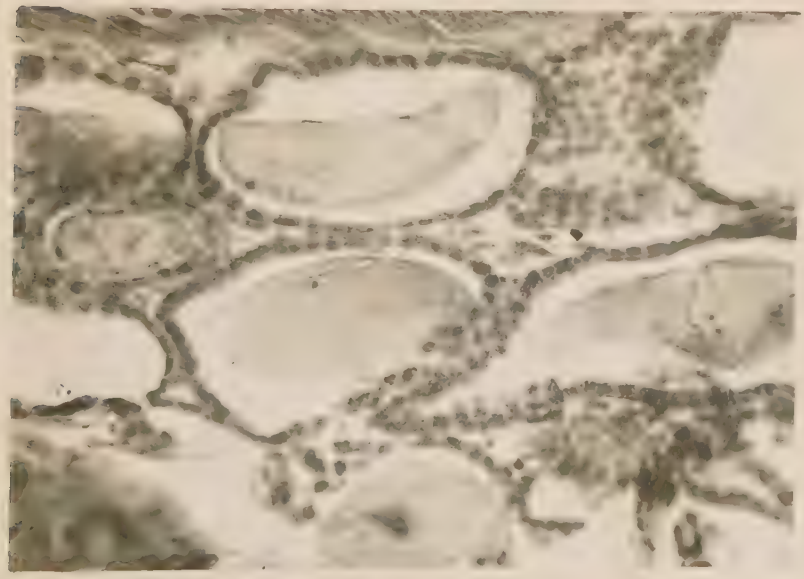

FIGURE 10.

Maladie de Basedow. Réponse positive à l'injection de 1 cc. d'urine.

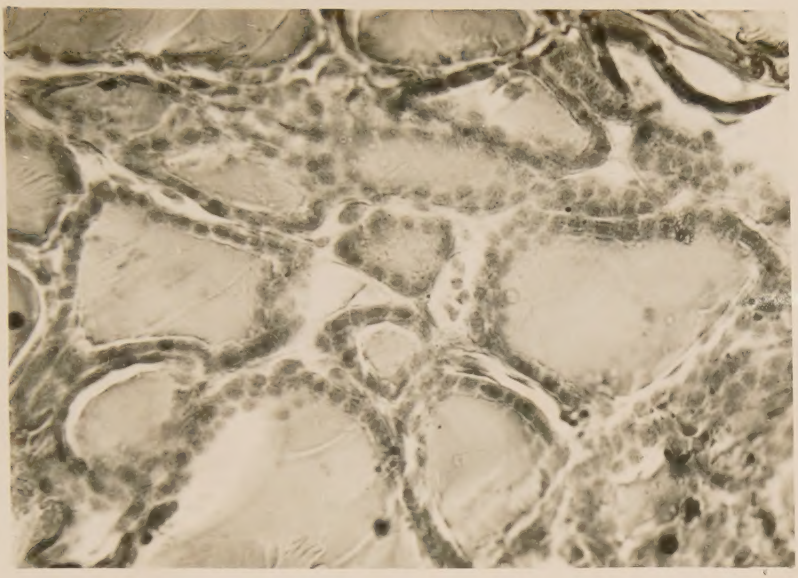

FIGURE 11.

Maladie de Basedow. Réponse positive à l'injection de 1 cc. d'urine.

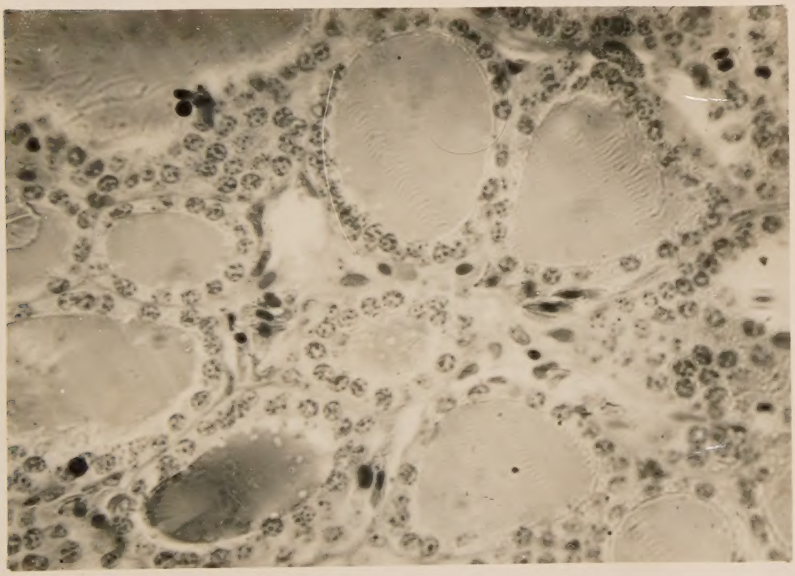

FIGURE 12.

Myxœdème. Réponse très fortement positive à l'injection de 1 cc. de sérum sanguin.

Nous tenons à remercier particulièrement notre camarade Malineau qui a bien voulu se charger de l'exécution des microphotographies.

BORDEAUX
IMPRIMERIE R. SAMIE
21-23, rue Teulère
—
1950

Dépôt légal N° 15.302 — 4e Trimestre 1950